

МЕЖДУНАРОДНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

Восточная
Европа

№ 1 (13) 2015



Пираргирит
(от греч. pyr – огонь
и argyros – серебро) –
вишнево-красный минерал
с алмазным блеском,
компонент серебряных руд.

ISSN 2226-5392



9 772226 539008



ПРОФЕССИОНАЛЬНЫЕ
ИЗДАНИЯ

УДК 616.155.392-036.1:615.277:547.2905.

Костюк О.В., Маслак А.С., Бразалук А.З.

Днепропетровская медицинская академия, Днепропетровск, Украина

Kostyuk O., Maslak A., Brazaluk A.

Dnepropetrovsk Medical Academy, Dnepropetrovsk, Ukraine

Влияние алкилирующей терапии на сиалированность мембран лимфоцитов при хроническом лимфолейкозе

The effect of alkylating therapy on sialylation of lymphocyte
membrane in chronic lympholeucosis

Резюме

Исследование сиалированности мембран лимфоцитов плазмы крови больных хроническим лимфолейкозом до лечения, в первые сутки и через 2 мес. после введения больным алкилирующей терапии по схеме COP (циклофосфамид, винкристин, преднизолон) проведено с помощью метода проточной цитофлуориметрии. В работе использованы лектины: акации амурской – MAA II (аффинный к NeuNAc($\alpha 2 \rightarrow 3$)DGal/DGalNAc), бузины черной – SNA (аффинный к NeuNAc($\alpha 2 \rightarrow 6$)DGal/DGalNAc). Показано повышение количества лимфоцитов, содержащих концевые $\alpha 2,6$ - и $\alpha 2,3$ -сиалированные углеводные последовательности при хроническом лимфолейкозе. Установлено, что проведение алкилирующей терапии разнонаправлено влияет на этот показатель: уровень лимфоцитов с $\alpha 2,6$ -сиалированными N-гликанами увеличивается в первые сут. на $66,0 \pm 4,2\%$ и остается повышенным через 2 мес. после проведения лечения, в то время как количество лимфоцитов, несущих $\alpha 2,3$ -сиалированные последовательности, под действием COP-терапии снижается на всех этапах лечения. Установлено, что лимфоциты больных хроническим лимфолейкозом на своей поверхности имеют более высокий уровень $\alpha 2,6$ - и $\alpha 2,3$ -сиалированности по сравнению с нормой. В работе установлено, что алкилирующая терапия значительно влияет на $\alpha 2,3$ - и $\alpha 2,6$ -сиалированность поверхностных гликоконъюгатов лимфоцитов периферической крови больных хроническим лимфолейкозом и является эффективной в отношении снижения количества лимфоцитов с повышенным содержанием сиаловых кислот на своей поверхности.

Ключевые слова: хронический лимфолейкоз, алкилирующая терапия, лимфоциты, $\alpha 2,6$ -сиалированность, $\alpha 2,3$ -сиалированность.

Resume

The investigation of sialylation of blood plasma lymphocyte membrane in patients with chronic lympholeucosis before treatment, on the first day and in two months after the administration of alkylating therapy to patients under the scheme COP (cyclophosphamide, vincristine, prednisolone) was performed

by flow cytometry. In this study we used lectins: Maackia Amurensis – MAA II (affine to NeuNAc($\alpha 2 \rightarrow 3$) DGal/DGalNAc), Sambucus Nigra – SNA (affine to NeuNAc($\alpha 2 \rightarrow 6$) DGal/DGalNAc). The increase of the number of lymphocytes containing terminal $\alpha 2,6$ - and $\alpha 2,3$ -sialylated carbohydrate sequences was shown in chronic lympholeucosis. It is revealed that the carrying out alkylating therapy differently effects this marker: the level of lymphocytes with $\alpha 2,6$ -sialylated N-glycans increases on the first day by $66.0 \pm 4.2\%$ and remains high in two months after carrying out the treatment, while the number of lymphocytes bearing $\alpha 2,3$ -sialylated sequences under the effect of COP-therapy reduces at all stages of treatment. It is detected that lymphocytes in patients with chronic lympholeucosis on its surface have higher level of $\alpha 2,6$ - and $\alpha 2,3$ -sialylation comparing with the norm. In this paper it is revealed that the alkylating therapy significantly effects $\alpha 2,3$ - and $\alpha 2,6$ -sialylation of peripheral blood lymphocytes surface glycoconjugates in patients with chronic lympholeucosis and is effective in reducing the number of lymphocytes with a high content of sialic acids on the surface.

Keywords: chronic lympholeucosis, alkylating therapy, lymphocytes, $\alpha 2,6$ -sialylation, $\alpha 2,3$ -sialylation.

■ ВВЕДЕНИЕ

Процесс присоединения углеводных компонентов к белкам и липидам, проходящий в эндоплазматическом ретикулуме и аппарате Гольджи и катализируемый специфическими гликозилтрансферазами известен как гликозилирование [1]. Одним из его этапов является сиа́лирование – присоединение сиа́ловых кислот (СК), в основном ацильных производных нейраминовой кислоты к терминальной или коровой части углеводных последовательностей: N- или O-гликанов [2]. Сиа́ловые кислоты могут присоединяться посредством $\alpha 2,3$, или $\alpha 2,6$ связей к галактозе или N-ацетилгалактозамину либо быть $\alpha 2,8$ -связанными между собой, удлиняя углеводную ветвь [3]. Присутствие СК в составе углеводных цепей на поверхности опухолевых клеток маскирует антигенные детерминанты, влияет на процессы с участием иммунной системы, снижая иммуногенные свойства таких клеток. Среди всего разнообразия углеводных структур наиболее изученными при онкологических процессах являются O-гликаны, особенно сиа́лил-Tn антиген, в то время как исследованию сиа́лированности N-гликанов, особенно при лейкозах, уделяется мало внимания [3].

Хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) – быстро прогрессирующее заболевание, которое характеризуется накоплением трансформированных лимфоцитов в костном мозге и кровеносном русле [5]. В настоящее время на территории Украины для лечения ХЛЛ используют алкилирующие препараты (циклофосфамид, хлорамбуцил и др.) [6]. Их воздействие на организм больного изучено в основном с клинической точки зрения [7]. Хотя, по мнению Yanmin Li, 2013 г., изменение гликобиологических показателей при онкологических заболеваниях, влияние химиотерапевтических факторов и, как следствие, разработка новых противоопухолевых препаратов на основе полученных знаний являются одним из приоритетных направлений современных исследований [8]. По данным, полученным в нашей лаборатории, терапия цитостатиками влияет на галактозилированность и сиа́лированность N-гликанов плазменных форм гликопротеинов [9]. Поскольку изменения в плазме – это отражение нарушений в клетках, особенно если речь идет о клетках опухолевого клона, то целью настоящего исследования было показать влияние

Благодаря своим размерам, гидрофильным особенностям и сильным кислотным свойствам, СК на поверхности форменных элементов крови формируют электрический заряд клетки, влияя таким образом на поведение клетки, ее межклеточное пространство, что характерно для многих воспалительных и опухолевых процессов [4].

полихимиотерапевтического лечения на сialiрованность N-гликоtopов
мембран лимфоцитов больных хроническим лимфолейкозом.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования были лимфоциты крови больных ХЛЛ (n=18) в возрасте 58–66 лет, которые в зависимости от срока лечения составили три группы: I – до лечения; II – первые сутки с начала проведения курса стандартной полихимиотерапии (ПХТ) по схеме COP (циклофосфамид 750 мг/м² в/в в 1-е сут., винкристин (онковин) 1,4 мг/м² в/в в 1-е сут., преднизолон в дозе 40 мг/м² на протяжении 5 сут.); III – через 2 мес. после проведения 1-го курса стандартной химиотерапии по схеме COP. В группу контроля вошли гематологически здоровые волонтеры (n=20) в возрасте от 55 до 65 лет. Лечение согласно полихимиотерапевтическим схемам по программе COP назначалось в качестве 1-й линии терапии больным хроническим лимфолейкозом исходя из конкретных клинико-гематологических показателей. Клиническое обследование пациентов проводили в соответствии со стандартами медицинской помощи в условиях специализированного стационара – гематологического отделения коммунального учреждения «Городская многопрофильная клиническая больница № 4», г. Днепропетровск. Диагноз «онкологическое заболевание крови» у больных исследуемой группы был верифицирован согласно с общепринятыми клиническими и морфологическими критериями, что закреплено Приказом Министерства здравоохранения Украины от 17.09.2007 № 554 «О утверждении протоколов предоставления медицинской помощи по специальности «Онкология» с дополнением согласно Приказу Министерства здравоохранения Украины от 30.07.2010 № 645. Все обследованные в письменном виде давали согласие на участие в исследовании.

Выделение лимфоцитов с гепаринизированной крови (20–25 ОД гепарина на 1 мл крови) проводили модифицированным методом A. Voym (1968), который основан на седиментации клеток в градиенте плотности [10]. Для этого в центрифужную пластиковую пробирку вносили 2–3 мл градиента плотности фиколл-урографина ($\rho=1,077$ г/мл), на него наслаивали 4–6 мл отстоявшейся, предварительно разведенной вдвое в физиологическом растворе плазмы и верхний слой эритроцитов. Пробирки центрифугировали на протяжении 40 мин с ускорением 200 g при комнатной температуре. Интерфазное кольцо лимфоцитов отбирали в сухую коническую центрифужную пробирку. Полученную суспензию клеток дважды отмывали в забуференном физиологическом растворе (ЗФР) следующим образом: к суспензии лимфоцитов добавляли 3–4 мл ЗФР, содержимое пробирки тщательно перемешивали и центрифугировали с ускорением 200–300 g при комнатной температуре 10 мин, затем отбирали надосадочную жидкость. После отмывания клеток ресуспендировали в ЗФР, считали их количество в камере Горяева. Жизнедеятельность клеток (больше 90%) определяли с помощью триптанового синего (Д.К. Новиков, В.И. Новикова, 1996) и готовили рабочую концентрацию лимфоцитов (300 тыс./мл в каждом образце) [11]. Количество лимфоцитов, содержащих на своей поверхности сialовые кислоты, определяли методом проточной цитофлуориметрии с использованием лектинов Maackiaamurensis (MAA II) акации амур-

Взятие биологического
материала для
исследований
производили согласно
принципам биоэтики
и медицинской
деонтологии.

ской (аффинный к последовательности NeuNAc($\alpha 2 \rightarrow 3$) DGal/DgalNAc) и Sambucusnigra (SNA) – лектин бузины черной (специфичный к последовательности NeuNAc($\alpha 2 \rightarrow 6$) DGal/DgalNAc), меченных флуоресцеинизотиоцианатом – ФИТЦ. Количество мертвых клеток контролировали по их связыванию с пропидий йодидом. Регистрацию данных проводили на проточном цитометре BeckmanCoulter EPICS. Обработку результатов проводили с помощью программы FC Express.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ Statistics 6.0. Достоверность отличий в группах сравнения устанавливали с использованием t-критерия Стьюдента.

Исследование проведено в рамках научно-исследовательской работы кафедры биохимии, медицинской и фармацевтической химии Днепропетровской медицинской академии «Экспрессия гликоконъюгатов и их посттрансляционная модификация при онкотрансформации» (№ государственной регистрации 0111U002788, 2011–2013 гг.)

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Методом проточной цитофлуориметрии установлено, что в группе гематологически здоровых доноров количество лимфоцитов с $\alpha 2,6$ - и $\alpha 2,3$ -сиалированными N-гликанами составляет $15,0 \pm 1,5\%$ и $25,0 \pm 1,8\%$ соответственно. У больных хроническим лимфолейкозом до прохождения курса полихимиотерапии эти показатели были выше и имели следующие значения: $56,0 \pm 3,2\%$ для SNA-связывающих гликотопов и $66,0 \pm 4,2\%$ для МАА II-связывающих углеводных детерминант. Таким образом, согласно полученным данным у таких больных больше половины лимфоцитов, циркулирующих в крови, содержат на своей поверхности N-гликаны с терминальными $\alpha 2,6$ - и $\alpha 2,3$ -сиаловыми кислотами (рис. 1). Наряду с этим был проведен анализ с использованием лектина Con A, специфичного к коровой структуре N-гликанов, с целью определения количества взаимодействующих с ним лимфоцитов у больных ХЛЛ. По полученным данным, количество Con A-позитивных лимфоцитов периферической крови у таких больных в 2,2 раза превышает показатель контрольной группы (результаты находятся в печати). Поскольку использованные лектины специфичны к тем или иным последовательностям, входящим в состав биантенных N-гликанов комплексного типа, можно предположить, что при ХЛЛ увеличивается количество лимфоцитов, содержащих концевые $\alpha 2,6$ - и $\alpha 2,3$ -сиалированные углеводные последовательности этого типа. Следует также отметить, что для этой группы больных характерен значительный рост количества лимфоцитов [12], что может быть одной из причин полученных нами результатов, однако требует дополнительного статистического корреляционного анализа.

В первые сут. проведения СОР-терапии наблюдалось значительное увеличение количества лимфоцитов, которые имеют на своей поверхности $\alpha 2,6$ -сиалированные N-гликаны. Так, количество SNA-позитивных лимфоцитов увеличилось в 6,6 раза и составило 100%, то есть введение химиотерапевтических агентов приводило к тому, что почти все лимфоциты на своей поверхности содержали $\alpha 2,6$ -сиалированные N-гликаны. В то же время количество клеток, которые связывают МАА II, уменьшилось с $66 \pm 4,1\%$ до $42 \pm 2,8\%$. Таким образом, в первые сутки

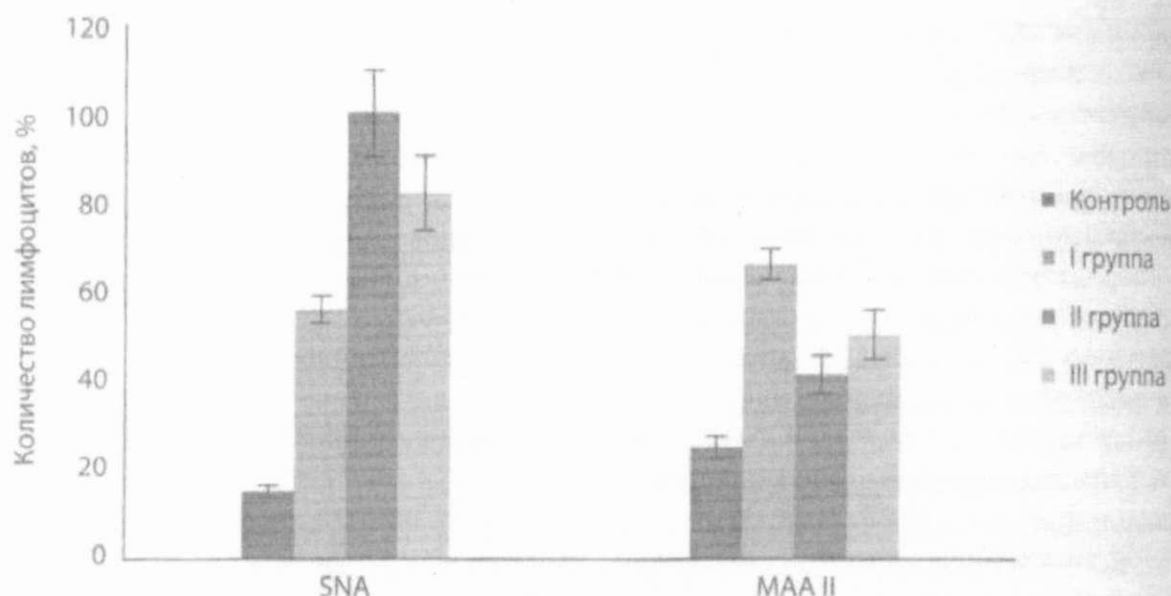


Рис. 1. Количество лимфоцитов крови гематологически здоровых доноров и больных хроническим лимфолейкозом с поверхностной локализацией SNA и MAA II-связывающих гликобелков

лечения химиотерапия по-разному влияла на количество лимфоцитов с $\alpha 2,6$ - и $\alpha 2,3$ -сиалотопами. Возможно, одной из причин полученных результатов может быть то, что СОР-терапия, как и любая цитостатическая терапия, приводит в первую очередь к значительному снижению количества патологических клеток [13], а, как известно, СК на мембранах лимфоцитов служат мишенью для макрофагов [14]. Возможно, MAA II-позитивные лимфоциты более чувствительны к действию алкилирующей терапии и подвергаются разрушению и выведению из организма быстрее, нежели SNA-позитивные. С другой стороны, избыточная экспрессия ST6GAL1 может приводить к снижению химиочувствительности к противоопухолевым препаратам, возможно, поэтому по результатам нашей работы увеличивается количество $\alpha 2,6$ -сиалированных клеток [15]. Следует также отметить, что количество лимфоцитов не снижалось до контрольных значений.

Через 2 мес. после проведения 1-го курса химиотерапии наблюдалось незначительное уменьшение количества лимфоцитов, которые связывают SNA, по сравнению с данными, полученными в первые сут. лечения, а именно количество лимфоцитов достигало значений $82,0 \pm 5,2\%$. А количество MAA II-позитивных лимфоцитов возрастало до $50,0 \pm 4,1\%$.

С использованием метода проточной цитофлуориметрии была определена интенсивность связывания сиалоспецифических лектинов с гликобелками поверхности плазматических мембран лимфоцитов в исследуемых группах. У больных ХЛЛ до лечения интенсивность связывания как $\alpha 2,3$ -, так и $\alpha 2,6$ -сиалотопов увеличивалась в 100 раз по сравнению с контрольной группой (рис. 2А, 3А). Таким образом, полученные данные свидетельствуют о повышении сиалированности углеводных цепей гликоконъюгатов на поверхности лимфоцитов периферической крови больных хроническим лимфолейкозом, что подтверждается результатами других исследователей. Предположительно, это может происходить за счет повышения экспонирования IgM. Этот белок, один из самых крупных, появляется при первичном иммунном ответе В-лимфоцитами, имеет 5 сайтов N-гликозилирования [17].

Следует отметить, что как в первые сутки лечения по схеме СОР, так

По данным Р. Суорика, 1993 г., при хроническом миелоидном лейкозе показано увеличение экспонирования сиалированных гликопротеинов на клеточной поверхности гранулоцитов [16].

и через 2 мес. после ее проведения интенсивность связывания с МАА II-ФИТЦ достигала значений контрольной группы (рис. 2Б), т.е. в отношении этого показателя данный вид терапии был эффективен и в первые сут. применения показал положительную динамику. Интенсивность связывания $\alpha 2,6$ -сиалированных гликоконъюгатов, полученная с использованием SNA-ФИТЦ в первые сут. проведения СОР-терапии, не изменялась, но снижалась до показателей нормы через 2 мес. (рис. 3Б).

Есть данные о том, что химиотерапия может приводить к изменению сиалированности опухолевых клеток. Увеличение количества $\alpha 2,6$ -сиалированных гликоконъюгатов на поверхности клеток может быть следствием повышенной экспрессии $\alpha 2,6$ -сиалилтрансфераз, которая показана при раке молочной железы и остром лейкозе [19–22]. Снижение интенсивности связывания сиалоспецифическими лектинами поверхности плазматических мембран лимфоцитов до уровня нормы после химиотерапии может свидетельствовать о положительной динамике лечения [23]. Исследования, проведенные на клеточной линии рака яичников, показали, что клетки с более высоким уровнем экспрессии ST6Gal-I (сиалилтрансфераза, которая добавляет $\alpha 2$ -6-связанные сиаловых кислот к N-гликанам) более устойчивы к цисплатину, цитотоксическому препарату алкилирующего действия [24]. Таким образом, можно предположить, что химиотерапия приводит к снижению экспрессии сиалилтрансфераз, что в свою очередь снижает количество сиаловых кислот на поверхности клеток.

Результаты исследования активности нейраминидазы и уровня сиаловых кислот позволили судить о влиянии на эти показатели полихимиотерапевтического лечения в данных группах больных. Оказалось, что СОР-терапия приводит к нормализации уровня СК и активности нейраминидазы на 1-м этапе лечения. Через 2 мес. после проведенного лечения активность плазменной нейраминидазы снижается на фоне увеличенного уровня сиаловых кислот [25]. Эти процессы сопровождались снижением степени сиалированности углеводных цепей N-гликанов 2 плазменных гликопротеинов: фибронектина и $\alpha 1$ -кислого гликопротеина [26], которые известны своим участием во многих реакциях, связанных с развитием воспалительных и опухолевых процессов. Так, по мнению I. Kątnik-Prastowska, 2006 г., изменение их гликозилированности может быть характерным показателем общих изменений белков плазмы [27]. Таким образом,

Циклофосфамид снижает количество сиаловых кислот в клетках лимфомы Дальтона [18].

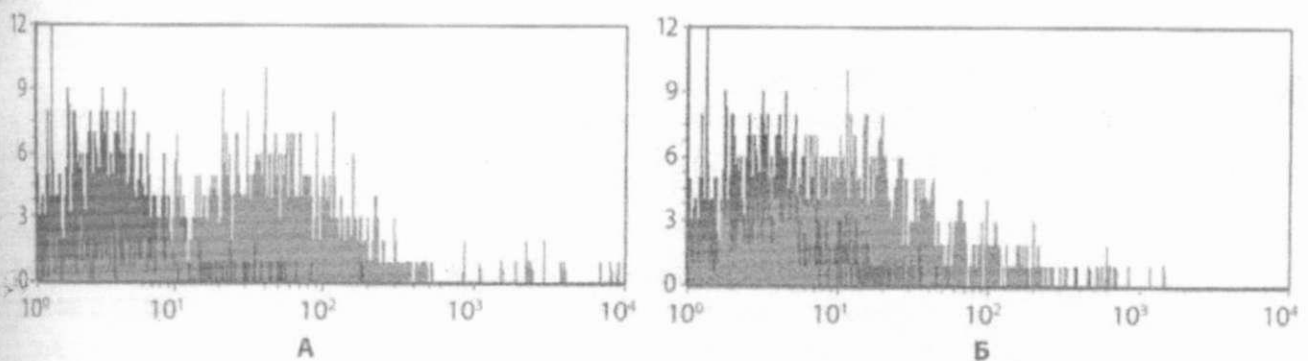


Рис. 2. Интенсивность флуоресценции, мВ ФИТЦ-МАА II в группах: (А) гематологически здоровых доноров (черная линия) и больных с хроническим лимфолейкозом до лечения (серая линия); (Б) гематологически здоровых доноров (черная линия) и больных с хроническим лимфолейкозом в первые сут. после проведения алкилирующей терапии (серая линия)

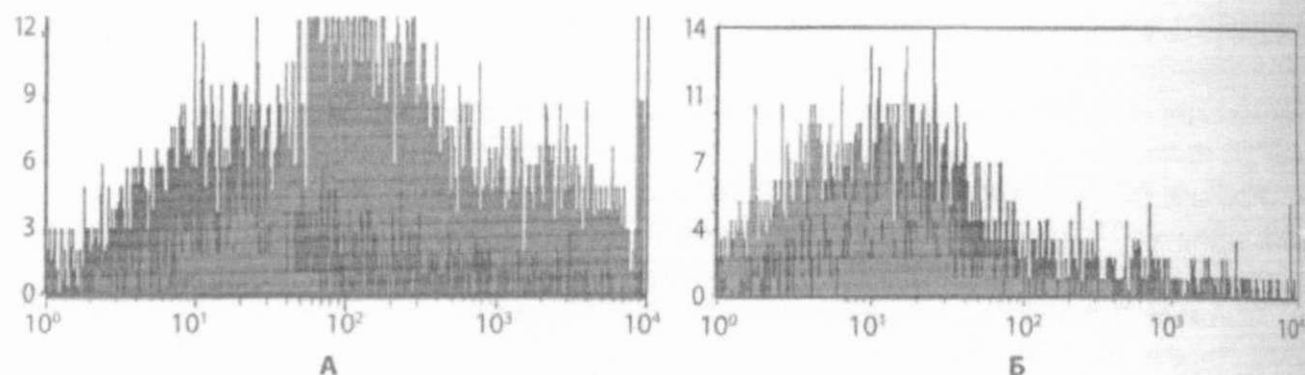


Рис. 3. Интенсивность флуоресценции, мВ ФИТЦ-SNA в группах: (А) гематологически здоровых доноров (черная линия) и больных с хроническим лимфолейкозом до лечения (серая линия); (Б) гематологически здоровых доноров (черная линия) и больных с хроническим лимфолейкозом через 2 мес. после проведения алкилирующей терапии (серая линия)

у больных хроническим лимфолейкозом СОР-терапия приводит к снижению сиалированности как плазменных белков, так и гликоконъюгатов на поверхности лимфоцитов. Полученные результаты могут свидетельствовать об универсальности воздействия СОР-терапии на процессы сиалирования, которые проявляются изменением гликозилированности плазменных белков и гликоконъюгатов на поверхности клеток.

Терапия цитостатиками для лечения онкобольных была предложена еще в 50-х гг. прошлого века [28], а ее эффективность оценена в первую очередь по показателям снижения количества клеток опухолевого клона, что и до сегодняшнего дня является главной задачей современной онкологии [29]. Исследования влияния этого типа лечения на глибиологические процессы, происходящие при развитии патологических состояний, проводились недостаточно широко в связи с относительно молодым возрастом самой науки гликобиологии [30]. Поскольку в клиниках Украины терапия цитостатиками до сих пор является одной из основных, изучение ее влияния на процессы гликозилирования при онкопролиферативных заболеваниях имеет актуальное значение. В соответствии с полученными данными СОР-терапия значительно влияет на $\alpha 2,3$ - и $\alpha 2,6$ -сиалированность поверхностных гликоконъюгатов лимфоцитов периферической крови больных хроническим лимфолейкозом и является эффективной в отношении снижения количества лимфоцитов с повышенным содержанием сиаловых кислот на своей поверхности.

■ ВЫВОДЫ

1. При хроническом лимфолейкозе показано увеличение количества лимфоцитов периферической крови, несущих на своей поверхности N-гликаны с терминальными $\alpha 2,3$ - и $\alpha 2,6$ -сиаловыми кислотами.
2. Количество SNA-позитивных лимфоцитов было повышено как в первые сут., так и через 2 мес. после проведения алкилирующей терапии, а количество клеток, которые связывают МАА II-ФИТЦ, уменьшалось на всех этапах лечения.
3. Лимфоциты больных хроническим лимфолейкозом содержат повышенную $\alpha 2,3$ - и $\alpha 2,6$ -сиалированность углеводных цепей гликоконъюгатов по сравнению с нормой.

4. Алкилирующая терапия приводит к снижению содержания $\alpha 2,3$ -сиалированных гликанов на поверхности лимфоцитов уже в первые сут. лечения, а количество поверхностных $\alpha 2,6$ -сиалированных гликоконъюгатов снижается через 2 мес. после ее проведения.

■ ЛИТЕРАТУРА

1. Petrescu S. (2012) Structural Biology of Glycoproteins. Glycosylation. *InTech*, pp. 448.
2. Gornik, O. Lauc G. (2008). Glycosylation of serum proteins in inflammatory diseases. *Disease Markers*, vol. 25, no 4–5, pp. 267–278.
3. Schultz M., Swindall A., Bellis S. (2012) Regulation of the metastatic cell phenotype by sialylated-glycans. *Cancer Metastasis Rev*, vol. 31, no 3–4, pp. 501–518. doi: 10.1007/s10555-012-9359-7.
4. Varki A., Gagneux P. (2012). Multifarious roles of sialic acids in immunity. *Ann N.Y. Acad. Sci*, no 1253, pp. 16–36. doi: 10.1111/j.1749-6632.2012.06517.x.
5. Gaidano G., Foà R., Dalla-Favera R. (2012) Molecular pathogenesis of chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Invest*, vol. 122, no 10, pp. 3432–3438.
6. Semochkin S.V. (2011) Bendamustin: novyj vzglyad na terpiyu hronicheskogo limfolejkioza i indolentnyhlimfom [Bendamustine: a new look at the treatment of chronic lymphocytic leukemia and indolent lymphomas]. *Oncohematology.SpecialIssue*, pp. 92–99.
7. Rao R., Shammo J., Enschede S., Porter C., Adler S., Venugopal P., Gregory S. (2005) The combination of fludarabine, cyclophosphamide, and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in the treatment of patients with relapsed chronic lymphocytic leukemia and low-grade Non-Hodgkin's lymphoma. *Clin Lymphoma*, vol. 6, no 1, pp. 26–30.
8. Li Y., Huang Q., Zhong Y., Wang A., Sun J., Zhou J. (2013) Prospects in Adoptive Cell Transfer Therapy for Cancer. *J ImmunolClin Res*, vol 1, no 1008, pp. 1–4.
9. Maslak A., Kostyuk O., Kulinich A., Mashejko I. (2013) 'Stepen' sialirovanosti galaktozilirovanosti glikoproteinov plazmy krovi pri alkiliruyushhej polihimioterapii bol'nyh na hronicheskij limfolejkioz [Level of sialylation and galactosylation of blood plasma glycoproteins under the influence of alkylating chemotherapy in patients with chronic lymphocytic leukemia] *Biologichni studii* (electronic journal) vol. 7, no 2, pp. 37–46. http://bioweb.lnu.edu.ua/studia/pdf/201372/2013_7_2_247.pdf.
10. Boyum A. (1968). Separation of leukocytes from blood and bone marrow. *Scand J. Clin.Lab.Investig*, vol. 21, no 97, pp. 1–9.
11. Koval'chuk L., Ignat'eva G., Gankovskaya L. (2010). *Immunologiya. Praktikum: ucheb posobie* [Immunology: Workshop: Tutorial]. Moscow: GEOTAR Media. (in Russian)
12. Rawstron A.C., Bennett F.L., O'Connor S.J.M., Kwok M., Fenton J.A.L., Plummer M., de Tute R., Owen R.G., Richards S.J., Jack A.S., Hillmen P., (2008). Monoclonal B-Cell Lymphocytosis and Chronic Lymphocytic Leukemia. *N. Engl. J. Med.*, vol. 359, pp. 575–583, doi: 10.1056/NEJMoa075290.
13. Tsveibakh A.S., Gol'dman E.I. (1978) Study of the effect of cytostatic therapy on the T- and B-cell population of peripheral blood in lymphocytic leukemia. *TerArkh*. vol. 50, no 7, pp.46–49.
14. Munday J., Floyd H., Crocker P.R. (1999). Sialic acid binding receptors (siglecs) expressed by macrophages. *J Leukoc Biol*. vol. 66, no 5, pp.705–711.
15. Cheng L., Hao K., Li Y., Song X., Zhou H., Li J. (2014). Reversal Effect of ST6GAL 1 on Multidrug Resistance in Human Leukemia by Regulating the PI3K/Akt Pathway and the Expression of P-gp and MRP1, vol. 9, no 1, e85113. doi:10.1371/journal.pone.0085113.
16. Cyopick P., Culliton R., Brockhausen I., Sutherland D.R., Mills G.B., Baker M. (1993). Role of aberrant sialylation of chronic myeloid leukemia granulocytes on binding and signal transduction by chemotactic peptides and colony stimulating factors. *Leuk Lymphoma*. vol. 11, no 1–2, pp. 79–90.

17. Arnold J.N., Wormald M.R., Suter D.M., Radcliffe C.M., Harvey D.J., Dwek R.A., Rudd P.M., Sim R.B. (2005). Human serum IgM glycosylation: identification of glycoforms that can bind to mannan-binding lectin. *J Biol Chem.* vol. 280, no 32, pp. 29080–29087.
18. Nicol B.M., Prasad S.B. (2002). Sialic acid changes in Dalton's lymphoma-bearing mice after cyclophosphamide and cisplatin treatment. *Braz J Med Biol Res*, vol. 35, no 5, pp. 549–553.
19. Chen J., Tang Y., Huang S., Juan H., Wu L.W., Sun Y., Wang S., Wu K., Balraj G., Chang T., Li W., Cheng H., Wang Y. (2011) A novel sialyltransferase inhibitor suppresses FAK/paxillin signaling and cancer angiogenesis and metastasis pathways. *Cancer Res*, vol. 71, no 2, pp. 473–483. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1303.
20. Sproviero D.L., Julien S., Burford B., Taylor-Papadimitriou J., Burchell J.M. (2012). Cyclooxygenase-2 enzyme induces the expression of the α -2,3-sialyltransferase-3 (ST3Gal-I) in breast cancer. *J Biol Chem.* vol. 287, no 53, pp. 44490–44497. doi: 10.1074/jbc.M112.427827.
21. Dall'Olio F., Malagolini N., di Stefano G., Minni F., Marrano D., Serafini-Cessi F. (1989). Increased CMP-NeuAc:Gal beta 1,4GlcNAc-R alpha 2,6 sialyltransferase activity in human colorectal cancer tissues. *Int J Cancer.* vol. 44, no 3, pp. 434–439.
22. Sata T., Roth J., Zuber C., Stamm B., Heitz P.U. (1991). Expression of alpha 2,6-linked sialic acid residues in neoplastic but not in normal human colonic mucosa. A lectin-gold cytochemical study with Sambucusnigra and Maackiaamurensislectins. *Am J Pathol*, vol. 139, no 6, pp. 1435–1448.
23. Lu D.Y., Lu T.R., Wu H.Y. (2012). Development of antimetastatic drugs by targeting tumor sialic acids. *Sci Pharm*, vol. 80, no 3, pp. 497–508.
24. Schultz M J.; Swindall A F.; Wright J W.; Sztul E S.; Landen C N.; Bellis S L. (2013). ST6Gal-I sialyltransferase confers cisplatin resistance in ovarian tumor cells. *Journal of Ovarian Research.* vol. 6, no 1, pp.1.
25. Maslak G., Kostyuk O., Brazaluk O. (2013). Sirovatochnij riven' sialovihkislota ta aktivnist' nejraminidazizavmovhronichnogo limfolejkazu ta nafoni himioterapevtichnogo likuvannya [Serum level of sialic acid and neuraminidase activity in chronic lymphocytic leukemia and background chemotherapy] *Scientific Notes of Taurida V. Vernadsky National University. Series: Biology, chemistry*, vol. 26 (65), no 1, pp. 105–111.
26. Maslak G. (2014) Porivnyal'nij analiz zapoverhnevimii vnutrishn'oklitinnimi α 1-kislom glikoproteinom i fibronektinom limfocitiv krovihvorihnagostri ta hronichni mielolejkazi. [Comparative analysis of blood lymphocytes of patients with acute and chronic myeloid leukemia by surface and intracellular α 1-acid glycoprotein and fibronectin]. *Studia Biologica*, vol. 8, no 1, pp. 117–124.
27. Kątnik-Prastowska I., Kratz E. M., Faundez R., Chelmońska-Soyta A. (2006). Lower expression of the alpha2, 3-sialylated fibronectinglycoform and appearance of the asialo-fibronectinglycoform are associated with high concentrations of fibronectin in human seminal plasma with abnormal semen parameters. *Clin Chem Lab Med*, vol. 44, no 9, pp. 1119–1125.
28. Prize C.K. (1996). The history of the oxazaphosphorinecytostatics. *Cancer. American Cancer Society*, vol. 78, no 3, pp. 542–547. doi: 10.1002/(SICI)1097-0142 (19960801)7
29. Danilov A. (2013). Targeted therapy in chronic lymphocytic leukemia: past, present, and future. *Clin Ther*, vol. 35, no 9, pp. 1258–1270. doi:10.1016/j.clinthera.2013.08.004.
30. Varki A., Schauer R. (2009). Historical Background and Overview. *Essentials of Glycobiology*. 2nd edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, pp. 281–292.

Поступила в редакцию 01.10.2014

Контакт: kostyuk-olga@mail.ua

(Костюк Ольга Владимировна – преподаватель кафедры биохимии, медицинской и фармацевтической химии Днепропетровской медицинской академии)